ISTITUTO ANATOMICO DELLA R. UNIVERSITÀ DI SIENA
diretto dal Prof. S. BIANCHI

4.

Un metodo di reazione al Cloruro d' Oro per le fibre e le espansioni nervose periferiche.

Dott. ANGELO RUFFINI
Libero docente di Istologia normale e Settore-capo

30 JAN 36
LIBRARY

Il metodo di reazione aurica di cui mi servo da oltre 12 anni, è assai semplice e, per i risultati che offre, di gran lunga superiore a tutti quelli fino ad oggi escogitati.

Dopo le osservazioni che con esso facemmo io ed alcuni fra i miei numerosi compagni di lavoro, è bene che ora entri nel dominio pubblico, affinchè se ne esperimenti la bontà e, da osservatori più esperti, si tenti di aprire con esso nuove vie alle nostre conoscenze sul sistema nervoso periferico.

La collezione dei miei preparati essendo omai nota in Italia e fuori ed esistendo in diversi laboratorî nostri ed esteri preparati fatti da me con questo metodo, io mi risparmio di dover dire qualche cosa sulla bontà del metodo stesso e di mettere in rilievo la chiarezza quasi schematica delle immagini che con esso si ottengono.

Il metodo riesce su pezzi di tessuto fresco, ai quali non siano stati fatti subire trattamenti di sorta ; anche un semplice lavaggio in acqua distillata potrebbe disturbare la buona riescita della reazione.

Non importa che il volume dei pezzi sia molto piccolo ; che anzi sono da consigliare pezzi piuttosto voluminosi.

I passaggi da fare sono i seguenti.

1° — Immersione per 10 e fino a 30 minuti in una soluzione di acido formico puro al 20 o 25 °/₀ in acqua distillata. Il tempo d' immersione in questa soluzione varia secondo il volume

dei pezzi e la qualità del tessuto dei medesimi. I muscoli ad es. sono compenetrati meglio ed in molto minor tempo che la cute.

Siccome i tessuti diventano trasparenti man mano che vengono penetrati dalla soluzione acida, così è indispensabile vedere quando gli stessi saranno diventati trasparenti in totalità. Per ben constatare questo fatto è necessario porre al disotto della vaschetta di vetro, contenente il tessuto in esame, un pezzo di carta nera. Durante l' acidificazione, i tessuti devono essere agitati frequentemente.

Si noti che la riescita della reazione dipende in massima parte dal tempo di acidificazione. Quindi tutta la nostra attenzione deve essere rivolta a saper cogliere il momento giusto di questa prima parte del processo. E' consigliabile di fare le prime prove sui muscoli volontarî, dove per solito si riesce ad ottenere buoni risultati con tutta facilità.

2° — Quando i pezzi sono diventati trasparenti, si cavano dalla soluzione acida e si passano su carta bibula, o meglio su di un panno di bucato. Si comprimono leggermente tra una piega del panno o della carta, per liberarli dall' eccesso della soluzione acida.

3° — Immersione per 20–30 minuti in una soluzione acquosa all' 1 °/₀ di Cloruro d' Oro cristallizzato purissimo (Cloruro d' Oro *flavum*). Con buon risultato si possono anche adoperare i diversi sali doppî (d' Oro e potassio, e Sodio, e Palladio, e Cadmio). Mentre i pezzi sono immersi nella soluzione del sale d'Oro, vanno tenuti riparati dai raggi luminosi, coprendo la vaschetta con una piccola campana di vetro rosso intenso. Ogni 4 o 5 minuti agitare. Bisogna anche scrupolosamente guardarsi dal non toccare i pezzi con istrumenti metallici.

4° — Con pinzette a branche d' Avorio, si cavano i pezzi e si trattano come al n° 2.

5° — Passaggio in soluzione acquosa di acido formico al 20–25 °/₀, per 24 ore ed al buio completo. Pare che la quantità della soluzione acida influisca sulla perfetta riescita della reazione. Disposti i pezzi sul fondo di una vaschetta di vetro, si versa tanta soluzione acida che basti appena a coprirli. Si pongano quindi al buio e si lascino in assoluta tranquillità per 24 ore.

6° — Asciugare come ai n. 2 e 4; passaggio diretto in glicerina pura, lasciando il vasetto sul tavolo da lavoro almeno per otto giorni, avanti d' incominciare a far le preparazioni. Questo periodo di riposo è necessario, perchè la glicerina penetri completamente nei pezzi e perchè la reazione acquisti quel grado di maturità che è necessaria per ottenere delle immagini nitide.

Il titolo della soluzione acida del 20–25 °/₀ va abbassato fino al 15, 12, 10 ecc. quando si vogliano studiare muscoli o cute nei primi giorni della vita extrauterina, oppure nei vertebrati inferiori, attenendosi in tutto il resto alle regole suesposte.

Si possono fare preparati per dilacerazione, oppure per seziani. In quest' ultimo caso, dalla glicerina i pezzi si passano per gli alcool a titolo crescente e si possono fare inclusioni tanto in celloidina che in paraffina. La finezza della reazione non soffre punto dopo questi trattamenti.

In qualunque modo siano stati fatti, i preparati si conservano benissimo per lunghi anni. Anzi ho notato che nei primi anni vanno sempre migliorando. Io conservo preparati fatti fin dal 1888, i quali non hanno subìto alcun deterioramento; sono chiari e nitidi come erano il giorno in cui li osservai pèr la prima volta. Benchè esposti lungamente alla luce non si alterino, tuttavia è prudenza conservarli al buio e riparati dalla polvere.

I pezzi in glicerina si conservano pure per lunghi anni senza che la reazione subisca alcun deterioramento. Io ho ancora vasetti contenenti pezzi di muscoli e di cute, reazionati 6 o 7 anni fa e nei quali la reazione si è conservata in ottime condizioni.

Come tutte le reazioni del genere, riesce meglio d' estate che d' inverno. Rarissime volte ho fatto uso del Termostato, ma senza alcun vantaggio. Però d' inverno potrebbe riescire utile, qualora non si porti la temperatura oltre i 20 centigradi.

Applicato alla cute, questo metodo mi ha dati ottimi risultati non solo per lo studio dei nervi, ma anche per mettere in evidenza la vascolarizzazione dei diversi elementi ivi contenuti e per dimostrare in modo affatto schematico le ghiandole sudoripare.

Oltre a tutti i pregi suesposti, questo metodo ha pure dei difetti. Anzitutto non è, come dissi, di riescita sicura e, quello che è peggio, ce ne sfugge completamente la ragione. In secondo luo-

go, le fibre nervose si presentano spesse volte spezzettate ; ciò però non accade mai per le fibre pallide della espansione nervosa. Tale spezzettamento va attribuito all' azione dell' acido formico, che rigonfia fortemente i tessuti. Per cui questi due gravi difetti rendono il metodo poco adatto ad essere applicato a ricerche di anatomia patologica.

Accade anche spesso che la espansione nervosa venga sopracolorata e ci appaia uniformemente tinta in nero. Potremo allora ricorrere con vantaggio alla decolorazione con soluzioni allungate (1 o 2 per °/₀) di Cianuro di Potassio od anche di Ferrocianuro potassico (prussiato giallo). La decolorazione è una operazione sempre delicatissima e va fatta sorvegliando continuamente al microscopio. Io ho trovato molto utile il diluire la soluzione decolorante in glicerina e farla così agire per mezzo di questo veicolo. Dopo decolorata, la preparazione va lavata immediatamente e per molte ore in acqua distillata. Si può quindi ripassarla in glicerina, oppure disidratarla, diafanizzarla e chiuderla in balsamo. Con la decolorazione io ho potuto avere dei preparati eccellenti; forse più dimostrativi di quelli che non abbiano avuto bisogno di questo processo. In questi casi però è sempre necessario colorare il tessuto del fondo con carminio ; a tale scopo non servono bene che le soluzioni acide.

Mentre questo metodo ha dati tanti buoni risultati nella pelle, nelle mucose, nei muscoli, nel periostio ecc. si è mostrato sempre ribelle per lo studio dei nervi nei parenchimi. In molte prove fatte, ho sempre avuti risultati completamente negativi.

Atti S. R. Accad. Dei Fisiocritici in Siena. Serie IV, Vol. XIII, N. 1-2, 1902